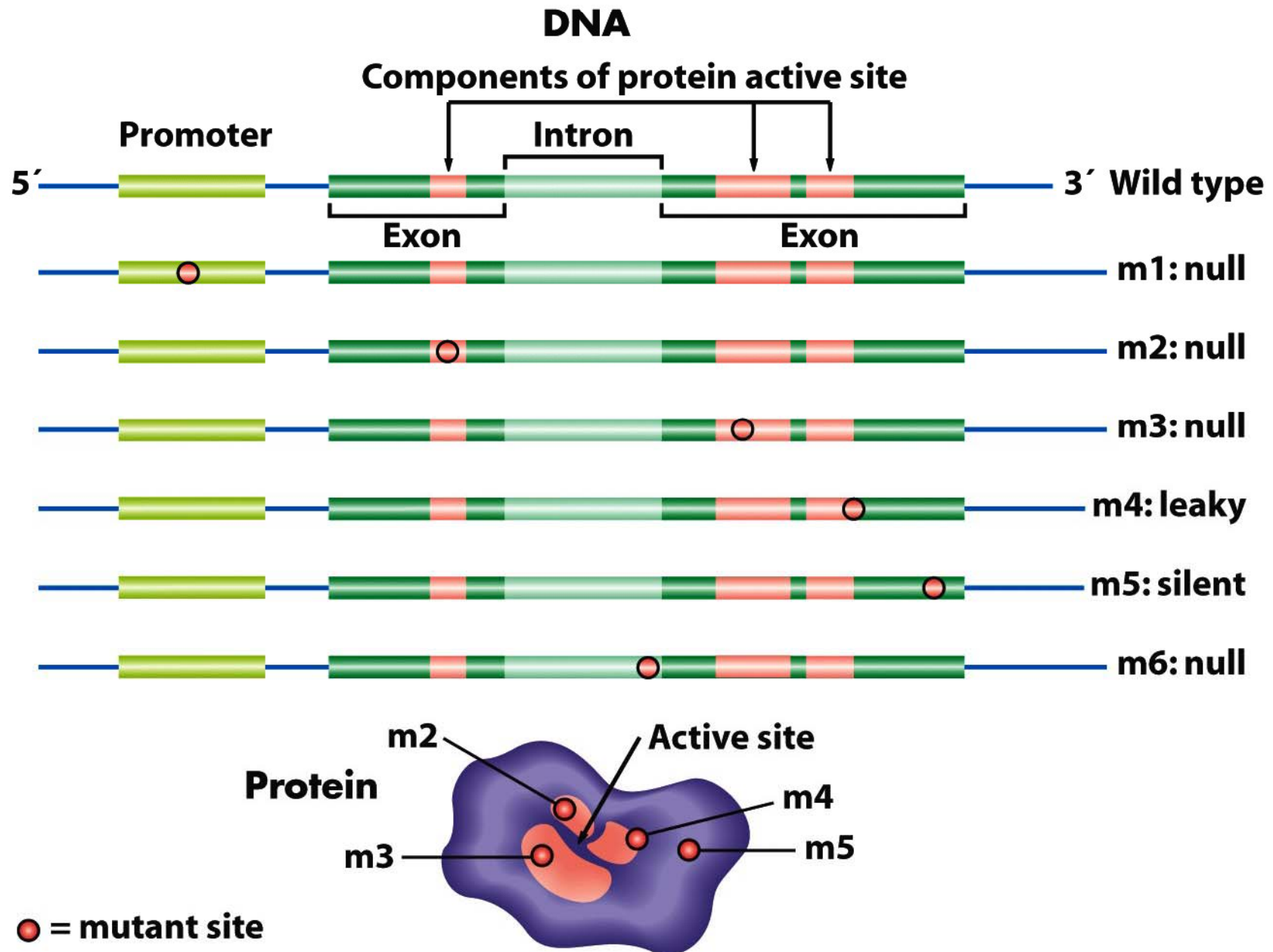


9. Mutationen

Konzepte:

- ➡ Vorwärts-/Rückwärts-Mutationen
- ➡ Somatische Zellen oder Keimzellen
- ➡ Loss-of-function/gain-of-function
- ➡ Mutagenese

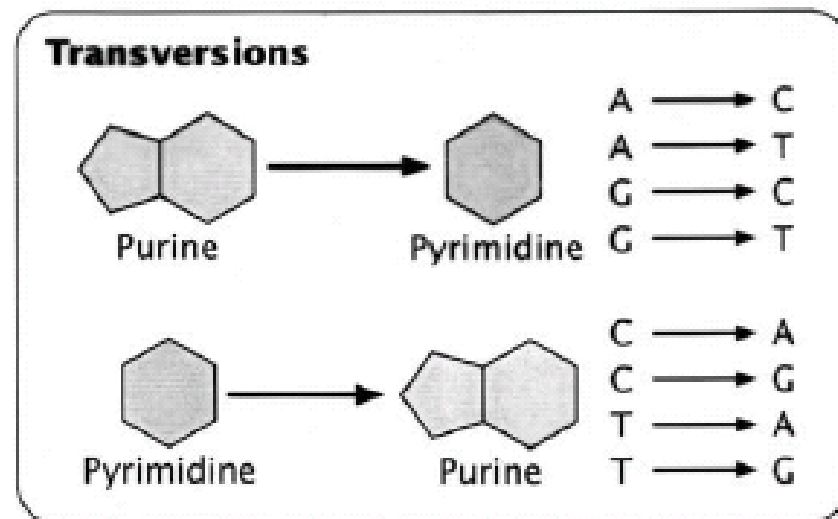
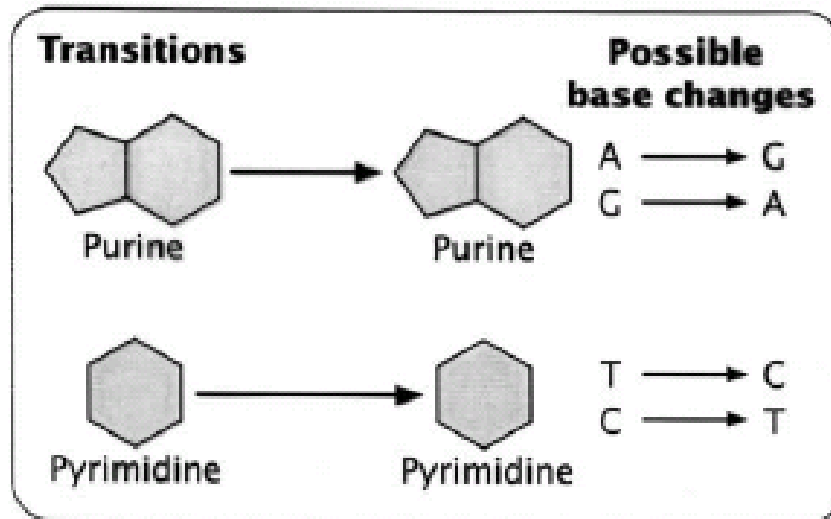
1. „Loss-of-function“-Mutationen treten häufiger auf als „gain-of-function“-Mutationen.
Sind Sie mit dieser Aussage einverstanden? Warum?



2. Definieren Sie die Begriffe „Transition“ und „Transversion“ und geben Sie Beispiele.

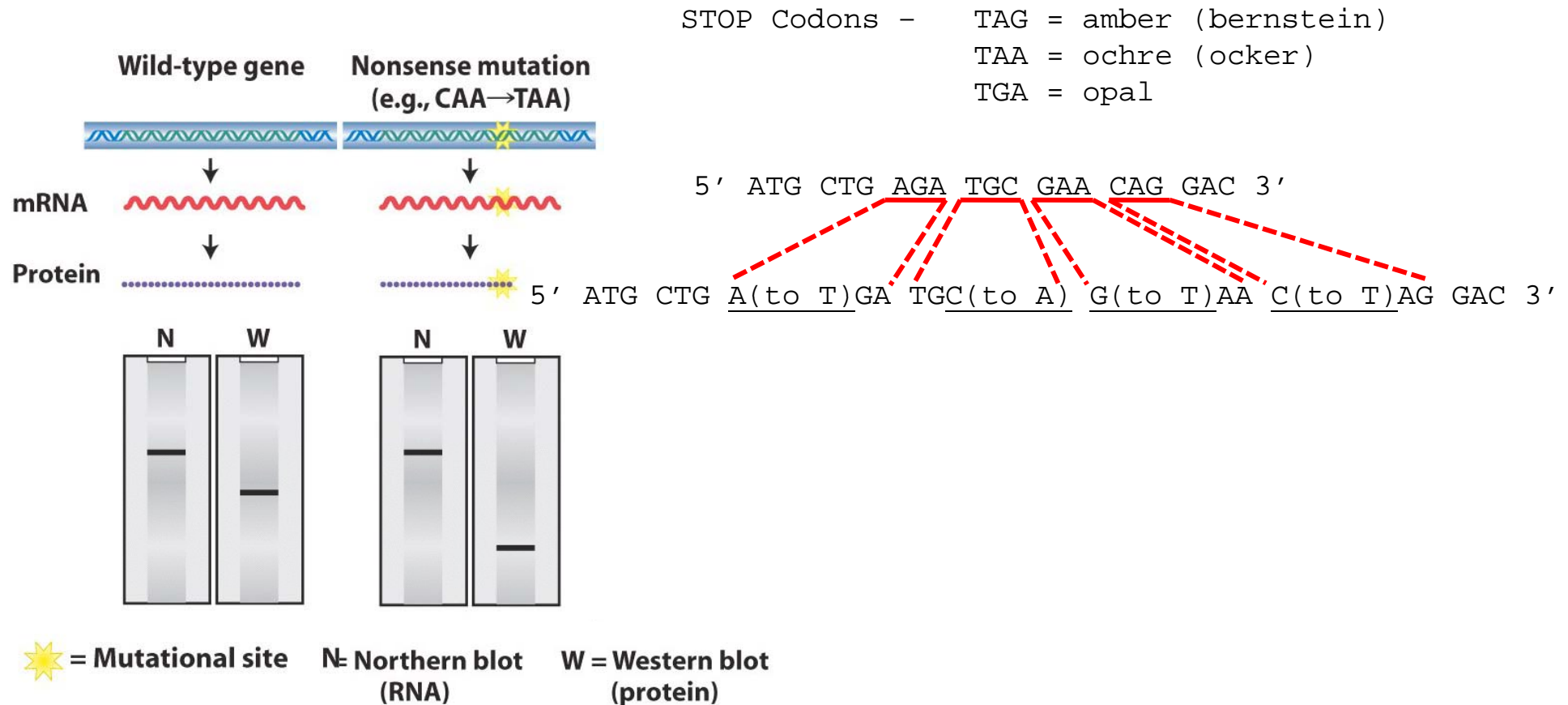
Table 14-2 Point Mutations at the Molecular Level

Type of mutation	Result and examples
<i>At DNA level</i>	
Transition	Purine replaced by a different purine, or pyrimidine replaced by a different pyrimidine: $A \cdot T \longrightarrow G \cdot C \longrightarrow G \cdot C \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow T \cdot A$ $T \cdot A \longrightarrow C \cdot G$
Transversion	Purine replaced by a pyrimidine, or pyrimidine replaced by a purine: $A \cdot T \longrightarrow C \cdot G$ $A \cdot T \longrightarrow T \cdot A$ $G \cdot C \longrightarrow T \cdot A$ $G \cdot C \longrightarrow C \cdot G$ $T \cdot A \longrightarrow G \cdot C$ $T \cdot A \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow G \cdot C$



3.

- Was ist eine „Nonsense“-Mutation?
- Welchen Einfluss haben „Nonsense“-Mutationen auf die Länge der mRNA?
- Welchen Einfluss haben „Nonsense“-Mutationen auf die Länge und Funktion des kodierten Proteins?
- Die folgende Sequenz entstammt dem kodierenden Strang eines Gens. Listen Sie alle möglichen Punktmutationen auf, die zu einer „Nonsense“-Mutation führen würden.
5' ATG CTG AGA TGC GAA CAG GAC 3'



4. Welche Typen von Punktmutationen kennen Sie?

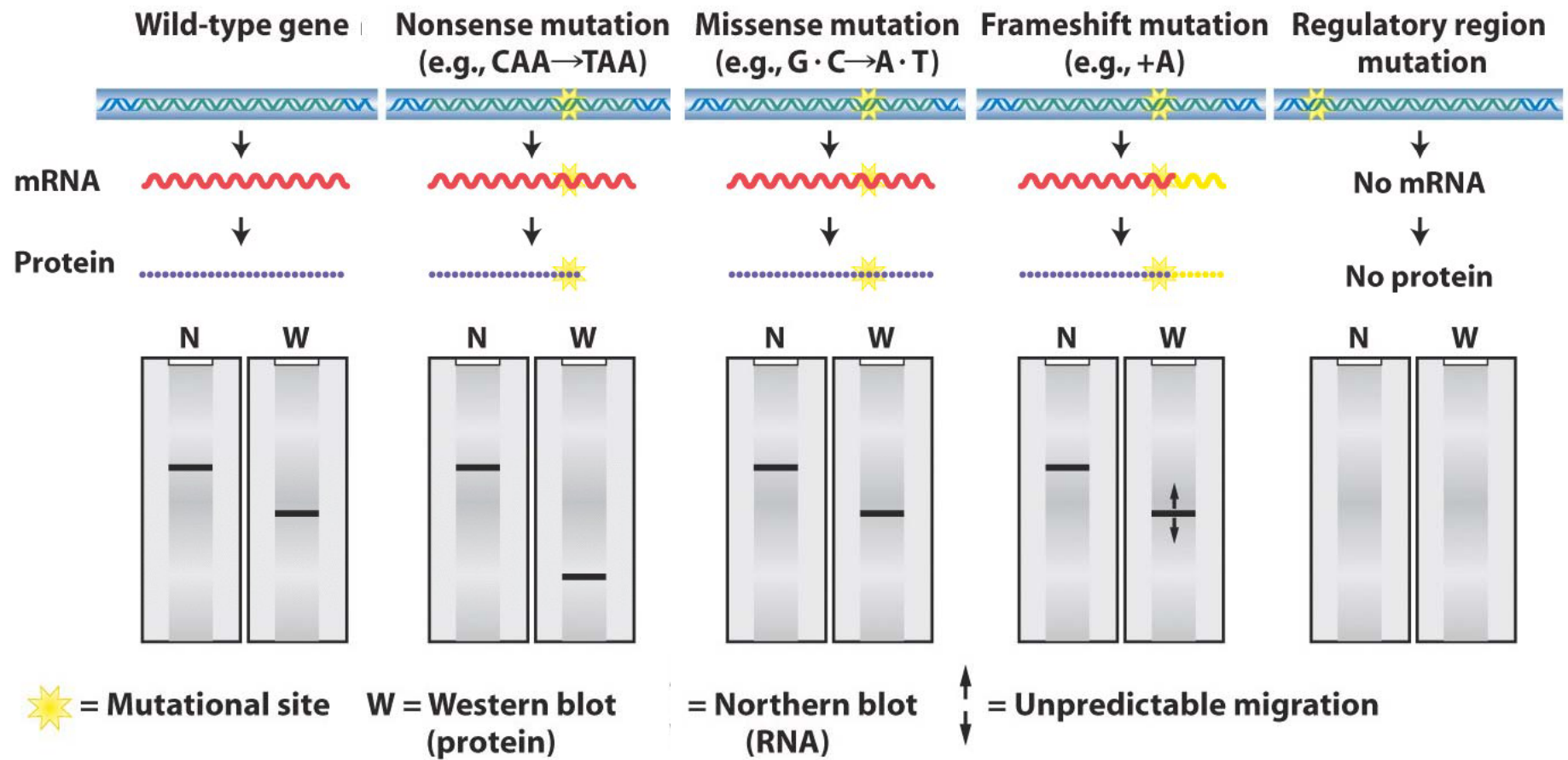
Table 14-2 Point Mutations at the Molecular Level

Type of mutation	Result and examples
<u>At DNA level</u>	
Transition	<p>Purine replaced by a different purine, or pyrimidine replaced by a different pyrimidine:</p> <p>$A \cdot T \longrightarrow G \cdot C \longrightarrow G \cdot C \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow T \cdot A$ $T \cdot A \longrightarrow C \cdot G$</p>
Transversion	<p>Purine replaced by a pyrimidine, or pyrimidine replaced by a purine:</p> <p> $A \cdot T \longrightarrow C \cdot G$ $A \cdot T \longrightarrow T \cdot A$ $G \cdot C \longrightarrow T \cdot A$ $G \cdot C \longrightarrow C \cdot G$ $T \cdot A \longrightarrow G \cdot C$ $T \cdot A \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow G \cdot C$ </p>
Indel	<p>Addition or deletion of one or more base pairs of DNA (inserted or deleted bases are underlined):</p> <p> <math>AAGACTCCT \longrightarrow AAGAG\text{<u>C</u>TCCT}</math> <math>AAG\text{<u>A</u>CTCCT} \longrightarrow AA\text{<u>A</u>CTCCT}</math> </p>

4. Welche Typen von Punktmutationen kennen Sie?

Table 14-2 Point Mutations at the Molecular Level

Type of mutation	Result and examples
<i>At protein level</i>	
Synonymous mutation = Stille Mutation	Codons specify the same amino acid: <div> <div>AGG → CGG</div> <div>Arg Arg</div> </div>
Missense mutation Conservative missense mutation = Neutrale Mutation	Codon specifies a different amino acid Codon specifies chemically similar amino acid: <div> <div>AAA → AGA</div> <div>Lys Arg</div> <div>(basic) (basic)</div> </div> <p>Does not alter protein function in many cases</p>
Nonconservative missense mutation	Codon specifies chemically dissimilar amino acid: <div> <div>UUU → UCU</div> <div>Hydrophobic Polar</div> <div>phenylalanine serine</div> </div>
Nonsense mutation	Codon signals chain termination: <div> <div>CAG → UAG</div> <div>Gln Amber</div> <div> termination</div> <div> codon</div> </div>
Frameshift mutation	One base-pair addition (underlined) <div>AAG ACT CCT → AAG AGC TCC T...</div> <p>One base-pair deletion (underlined) <div>AAG ACT CCT → AAA CTC CT...</div> </p>



5. Wie kann der Phänotyp einer Mutante zum Wildtyp-Phänotyp revertieren?

Reverse Mutationen

Exakte Reversion

AAA → GAA → AAA

Äquivalente Reversion

revertiertes Codon kodiert gleiche As

Intragenische Suppressormutationen

Frameshift an anderer Stelle

„Second site“ Missense-Mutation, die die Wildtyp-Konformation des Proteins wiederherstellt

Extragenische Suppressormutationen

Mutationen in tRNA-Anticodonloop, so dass trotz Mutation die richtige As eingebaut wird

Nonsense-Suppressoren

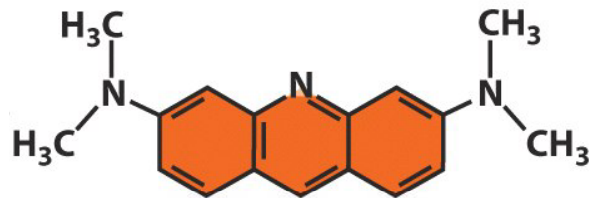
Missense-Suppressoren

6. Beschreiben Sie für jedes der folgende Mutagene, zu welchen DNA-Schäden und zu welchen Mutationen es führt.

- a) Acridinorange
- b) Ethylmethansulfonat (EMS)
- c) 2-Aminopurin (2AP)
- d) UV-Licht

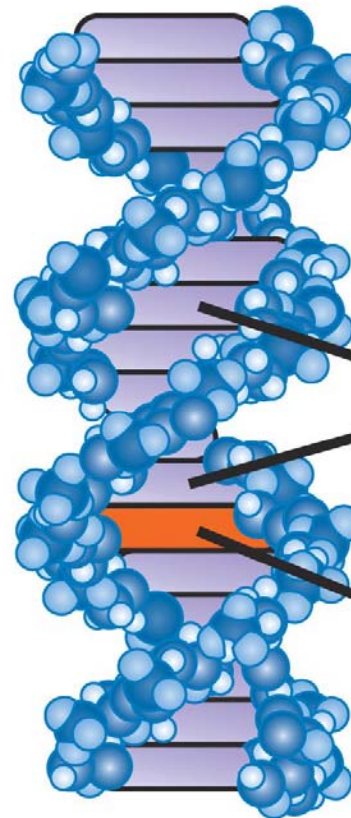
Acridinorange

interkalierende Substanz, führt zu Nukleotidinsertionen oder -deletionen



Acridine orange

Insertiert zwischen benachbarte Basen
→ stört die 3-D Struktur der Helix
→ verursacht Einzelnukleotid-Insertionen/-Deletionen während der Replikation

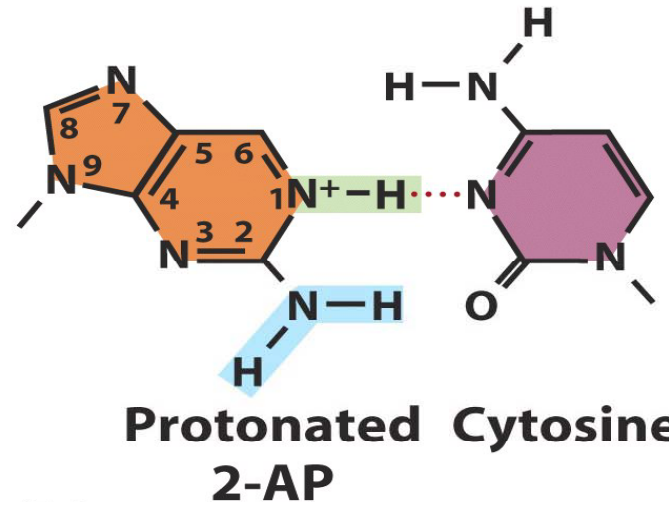
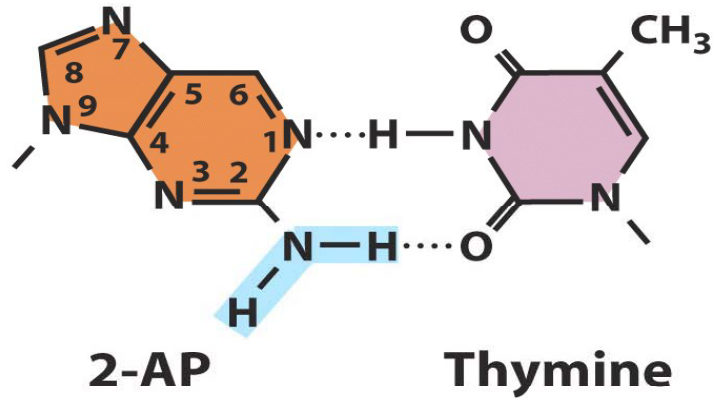


**Nitrogenous
bases**

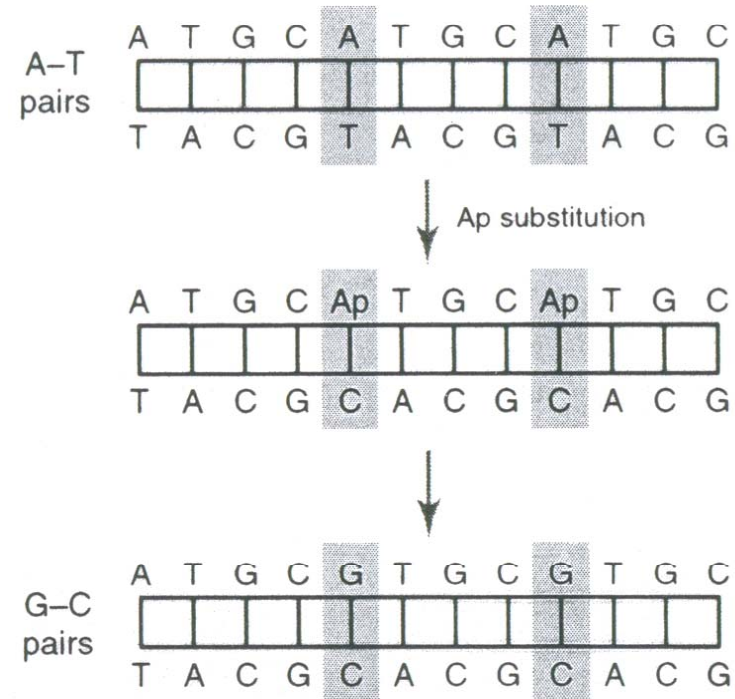
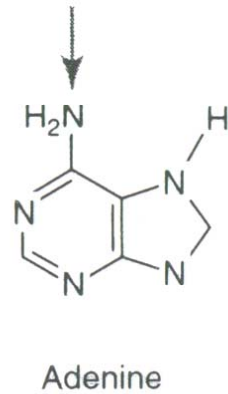
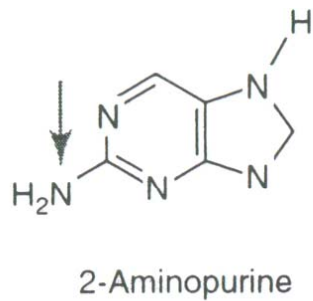
**Intercalated
molecule**

2AP

Basenanalogue, inseriert statt A und kann neben T auch mit C paaren

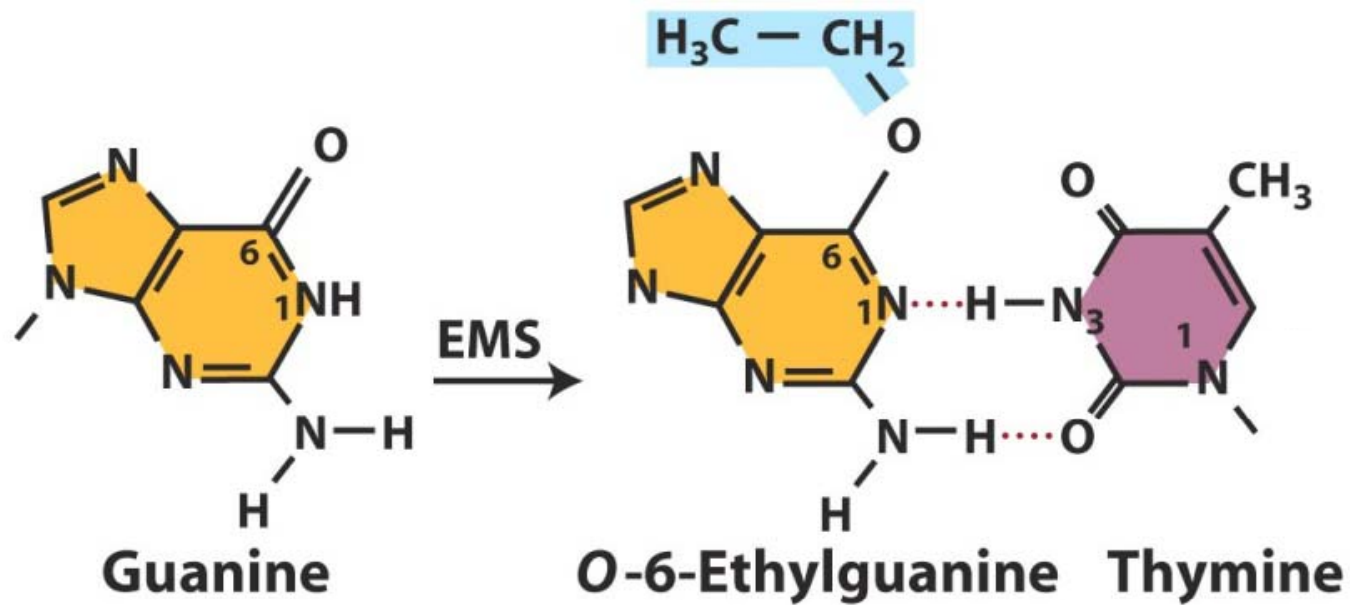


AT → GC



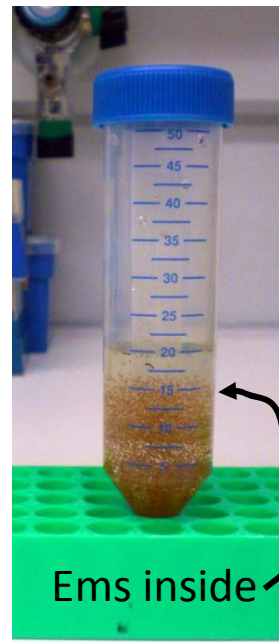
EMS

verursacht Transitionen durch **Alkylierung** von Basen (meist G)



G C → A T

Ems Mutagenese bei *A. thaliana*



Wachstumsreaktionen auf hohe Temperaturen in *Arabidopsis thaliana*

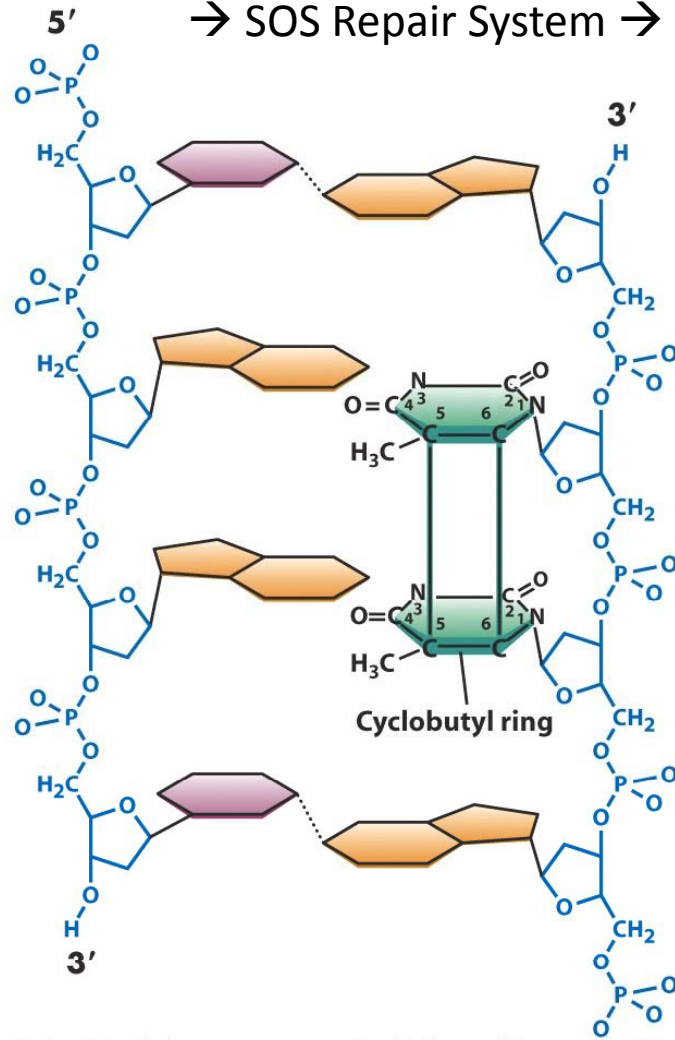




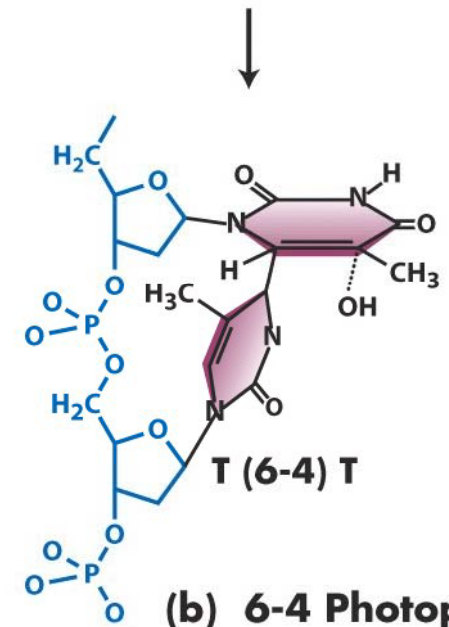
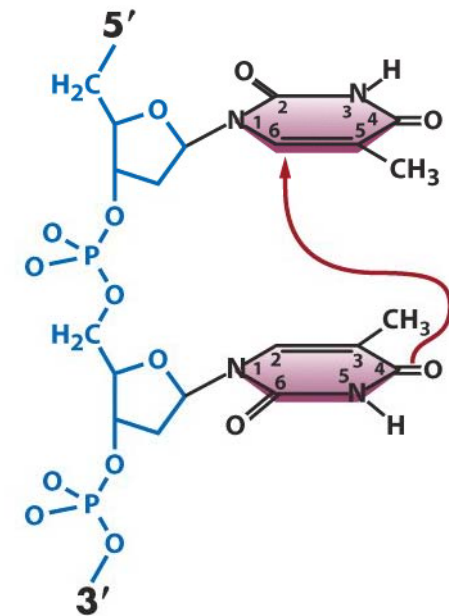
UV-Licht

verursacht Entstehung von Pyrimidin-Dimeren

- praktisch = Deletion einer Base
- DNA Pol III kann nicht weiterlesen
- SOS Repair System → hohe Fehlerrate!

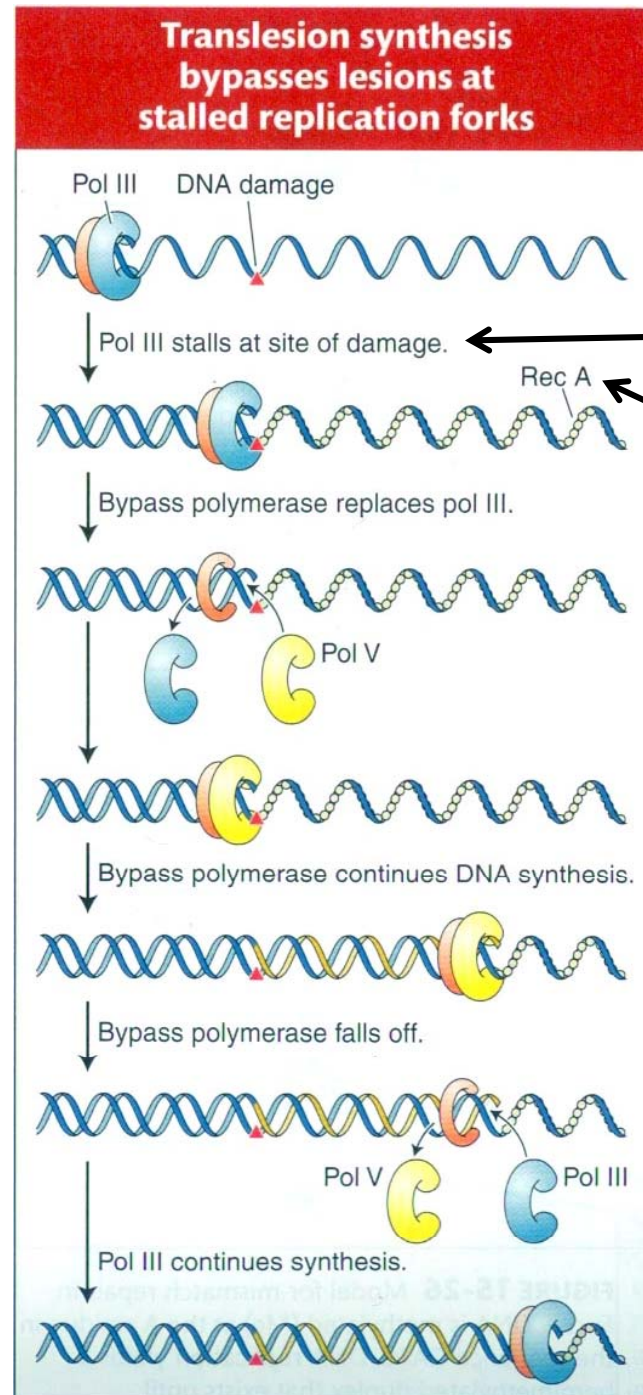


(a) Cyclobutane pyrimidine dimer



(b) 6-4 Photoproduct

SOS Repair System *E. coli*



z.B. T-C Photodimere

Rec A (induziert durch UV-Licht) bindet an single strand binding protein → Aktivierung von Genen für Bypass-Polymerasen (Pol V)

Fehlerrate = 75% pro Base

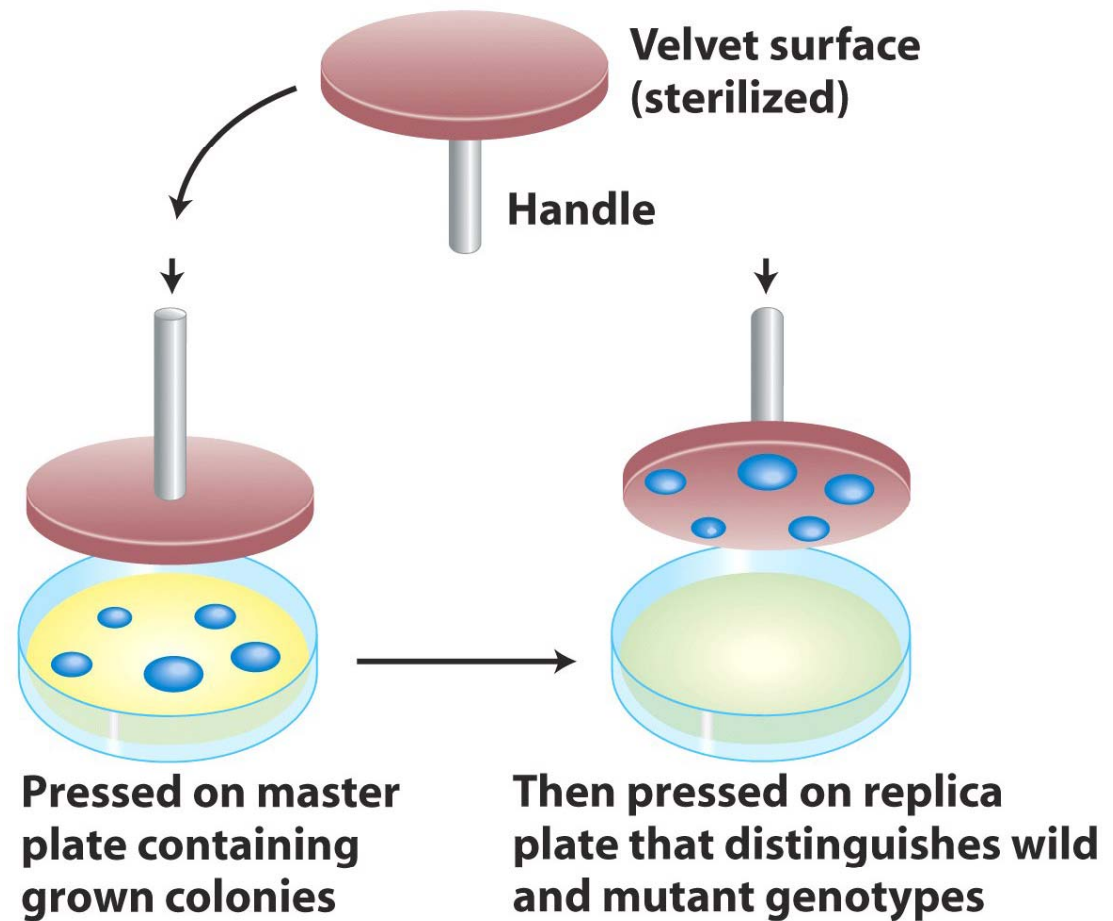
Zelle vermeidet Zelltod → aber Mutationen!

7. Sie besitzen einen *E. coli*-Stamm, der aufgrund der Gegenwart des *str^R*-Gens resistent gegen Streptomycin ist. Sie möchten nun Mutanten konstruieren, die aufgrund von Punktmutationen im *str^R*-Gen suszeptibel gegenüber Streptomycin sind. Wie gehen Sie vor?

1. Mutationen induzieren → z.B. Ems-Behandlung von *str^R*-*E. coli*-Stamm

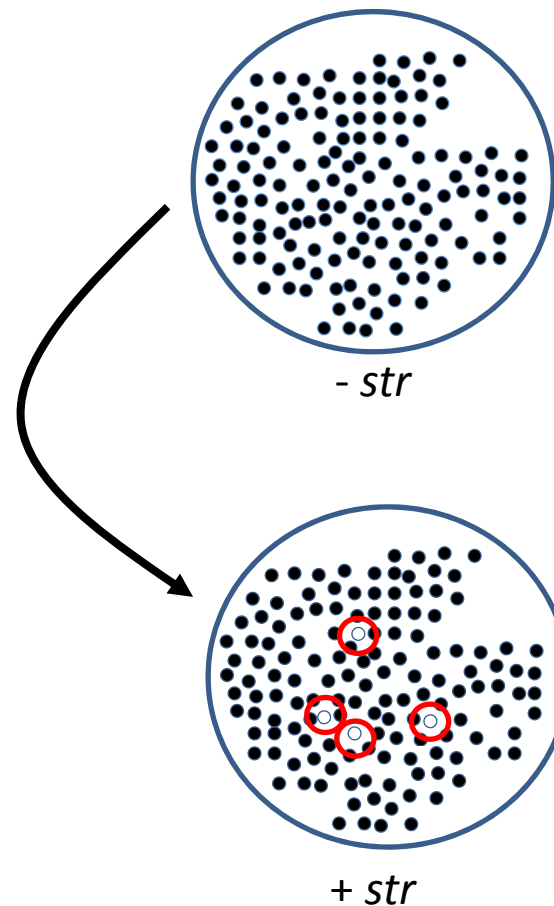
2. Auf Agar ausplattieren

3. Replikaplattierung



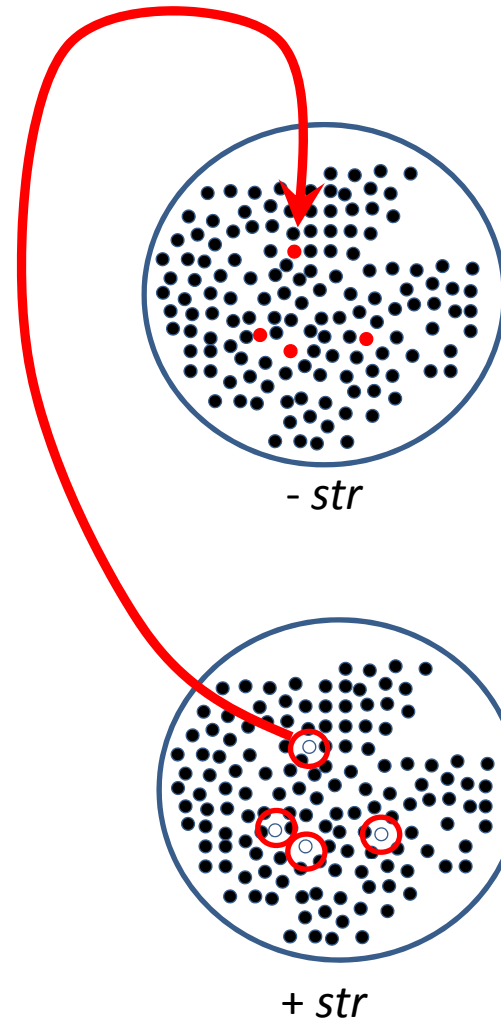
7. Sie besitzen einen *E. coli*-Stamm, der aufgrund der Gegenwart des *str^R*-Gens resistent gegen Streptomycin ist. Sie möchten nun Mutanten konstruieren, die aufgrund von Punktmutationen im *str^R*-Gen suszeptibel gegenüber Streptomycin sind. Wie gehen Sie vor?

1. Mutationen induzieren → z.B. Ems-Behandlung von *str^R*-*E. coli*-Stamm
2. Auf Agar ausplattieren
3. Replikaplattierung



7. Sie besitzen einen *E. coli*-Stamm, der aufgrund der Gegenwart des *str^R*-Gens resistent gegen Streptomycin ist. Sie möchten nun Mutanten konstruieren, die aufgrund von Punktmutationen im *str^R*-Gen suszeptibel gegenüber Streptomycin sind. Wie gehen Sie vor?

1. Mutationen induzieren → z.B. Ems-Behandlung von *str^R*-*E. coli*-Stamm
2. Auf Agar ausplattieren
3. Replikaplattierung
4. Identifizierung suszeptibler Kolonien



8. Eine bestimmte Pflanzensorte besitzt normalerweise das Pigment Anthocyanin, welches purpurfarbene Blüten bedingt. Das Allel A ist essentiell für die Anthocyanin-Synthese, das rezessive Allel a dagegen führt in einer Homozygote zu einer Pflanze, welche kein Anthocyanin enthält. Es gibt ein weiteres Allel a^u , welches in hoher Frequenz zu A revertiert.

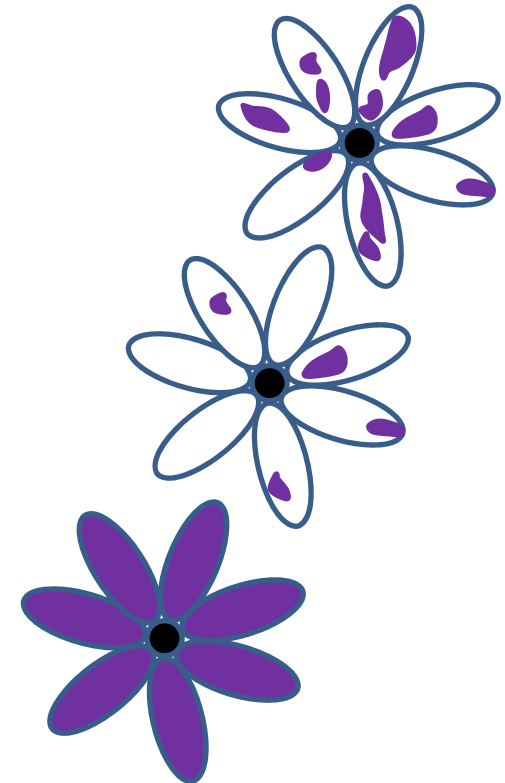
a) Welche Phänotypen würden Sie in Pflanzen des Genotyps 1) a^u/a^u , 2) a^u/a und 3) A/a^u erwarten?

b) Wie können Sie bestätigen, dass es sich bei den Reversionen tatsächlich um Mutationen handelt?

a^u/a^u —————> weiße Blüten mit purpurnen Sektoren

a^u/a —————> wie a^u/a^u , aber weniger Farbe

A/a^u —————> WT

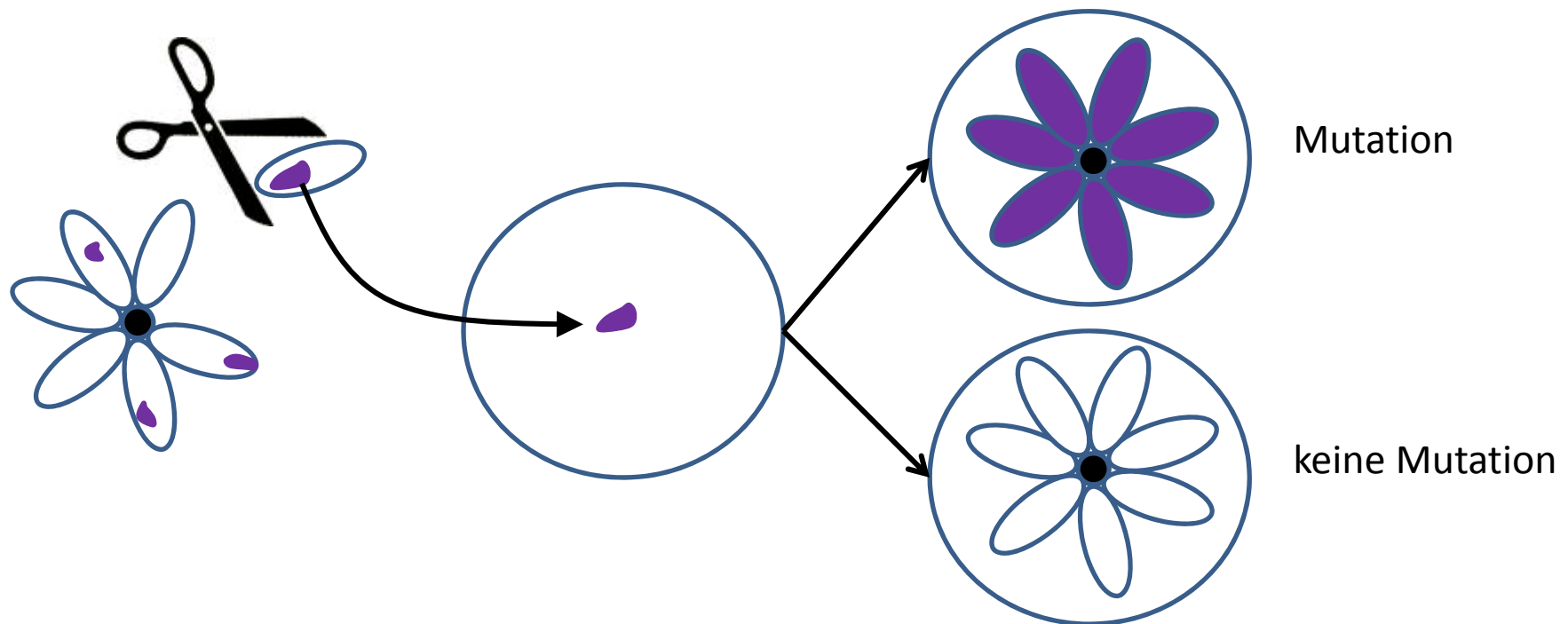


8. Eine bestimmte Pflanzensorte besitzt normalerweise das Pigment Anthocyanin, welches purpurfarbene Blüten bedingt. Das Allel A ist essentiell für die Anthocyanin-Synthese, das rezessive Allel a dagegen führt in einer Homozygote zu einer Pflanze, welche kein Anthocyanin enthält. Es gibt ein weiteres Allel a^u , welches in hoher Frequenz zu A revertiert.

a) Welche Phänotypen würden Sie in Pflanzen des Genotyps 1) a^u/a^u , 2) a^u/a und 3) A/a^u erwarten?

b) Wie können Sie bestätigen, dass es sich bei den Reversionen tatsächlich um Mutationen handelt?

- Zellen aus dem Farbsektor entnehmen und *in vitro* Pflanze kultivieren → somatische Zellen

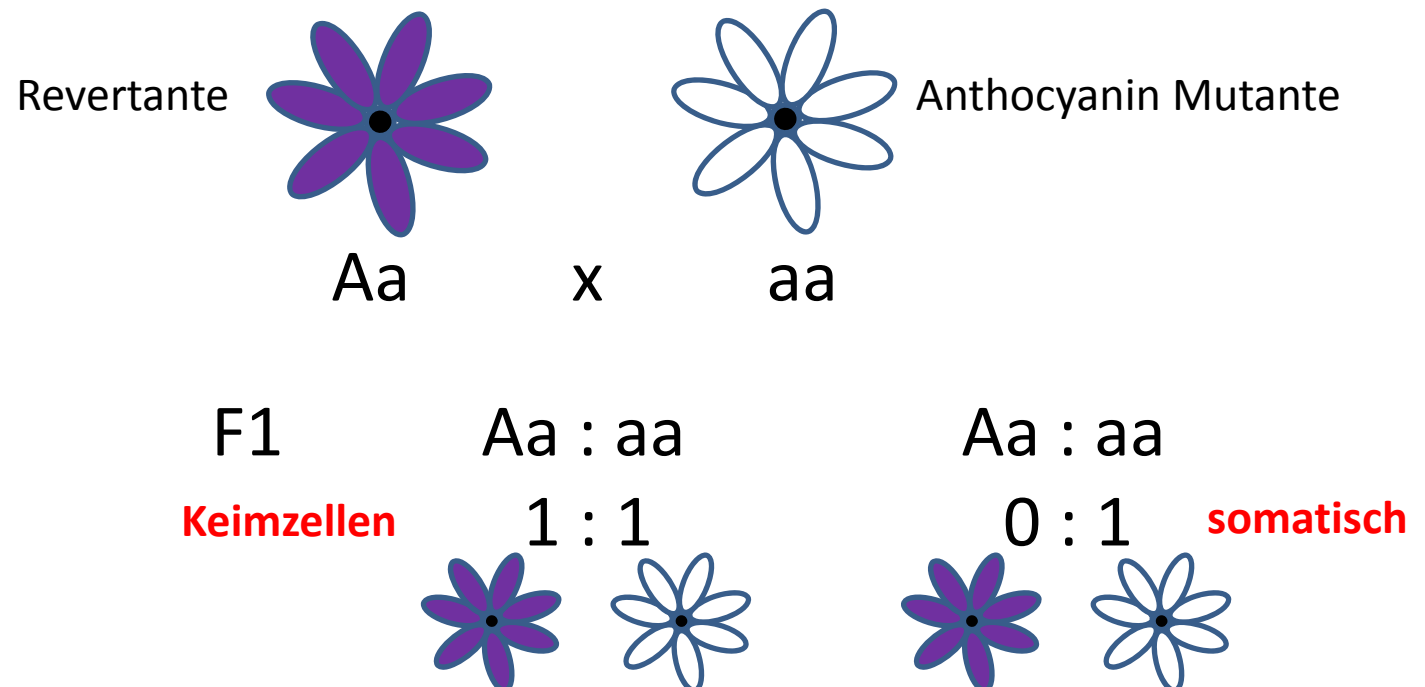


8. Eine bestimmte Pflanzensorte besitzt normalerweise das Pigment Anthocyanin, welches purpurfarbene Blüten bedingt. Das Allel A ist essentiell für die Anthocyanin-Synthese, das rezessive Allel a dagegen führt in einer Homozygote zu einer Pflanze, welche kein Anthocyanin enthält. Es gibt ein weiteres Allel a^u , welches in hoher Frequenz zu A revertiert.

a) Welche Phänotypen würden Sie in Pflanzen des Genotyps 1) a^u/a^u , 2) a^u/a und 3) A/a^u erwarten?

b) Wie können Sie bestätigen, dass es sich bei den Reversionen tatsächlich um Mutationen handelt?

- Zellen aus dem Farbsektor entnehmen und *in vitro* Pflanze kultivieren → somatische Zellen
- Revertante Pflanze mit a/a Anthocyanin Mutante kreuzen → Keimzellen



9. Definieren Sie folgende Begriffe:

- a) Monoploidie
- b) Euploidie
- c) Autopolyploidie
- d) Allopolyploidie

Ploidie → Anzahl homologer Chromosomensätze in einer Zelle

Monoploidie → einfacher Chromosomensatz (z.B. Fungi, männl. Bienen)

Euploidie → Vervielfachung oder Reduzierung kompletter Chromosomensätze

→ **Aneuploidie** : z.B. $2n+1$ → Trisomie 21

→ **Autopolyploidie** : Vervielfachung kompletter, arteigener Chromosomensätze

→ **Allopolyploidie** : Vervielfachung kompletter, aber aus verschiedenen Arten stammender Chromosomensätze

Allopolyploidie : Vervielfachung kompletter, aber aus verschiedenen Arten stammender Chromosomensätze → z.B. Weizen oder Brassica

